Prof. F. NERI

Sulla vaccinazione anticarbonchiosa, per via cutanea, sottocutanea, intramuscolare, endoperitoneale

Estratto dagli *Annali d'Igiene* - Anno XXXVII, fasc. 9, 1927

ROMA
INDUSTRIA TIPOGRAFICA ROMANA
Via Germanico N. 146

1927

Prof. F. NERI

Sulla vaccinazione anticarbonchiosa, per via cutanea, sottocutanea, intramuscolare, endoperitoneale

Estratto dagli *Annali d'Igiene* - Anno XXXVII, fasc. 9, 1927

ROMA
INDUSTRIA TIPOGRAFICA ROMANA
Via Germanico N. 146

1927

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI BARI

Sulla vaccinazione anticarbonchiosa per via cutanea, sottocutanea, intramuscolare, endoperitoneale

Ricerche sperimentali

del Prof. Filippo Neri, Direttore

Lo studio sperimentale dell'azione patogena di *Bac. anthracis* virulento (*L'Igiene Moderna*, 1923) e attenuato (*Ibidem.*, 1926) mi permise di mettere in evidenza che tutti i tessuti di un organismo ricettivo offrono a questo microrganismo condizioni adatte per la moltiplicazione iniziale, risultando così non confermata la concezione patogenetica di BESREDKA (*Annales Pasteur*, 1921) secondo cui soltanto la pelle offrirebbe tali condizioni.

Secondo BESREDKA, e in armonia col meccanismo patogenetico cuti-infettivo, anche i fenomeni immunitari anticarbonchiosi si svolgerebbero essenzialmente nel tessuto cutaneo, e l'immunità attiva anticarbonchiosa avrebbe carattere essenzialmente locale, e si stabilirebbe in conseguenza dell'azione del bacillo carbonchioso sulla pelle e senza formazione di anticorpi specifici dimostrabili nel siero di sangue.

Questa nuova concezione immunitaria ha suscitato numerose ricerche di controllo, che mi propongo di raccogliere in una rivista critica sulla immunità locale.

Mi limito qui a esporre le esperienze da me stesso eseguite in 1926-27 sulla vaccinazione anticarbonchiosa del coniglio, per via cutanea, sotto cutaneo, intramuscolare, endoperitoneale.

Scopo di queste esperienze è di ricercare se, escludendo ogni contatto diretto o indiretto del vaccino anticarbonchioso col tessuto cutaneo, si possa tuttavia ottenere l'immunità attiva, e di determinare comparativamente la efficacia della vaccinazione per le vie sopra indicate.

I. — Descrizione delle esperienze.

Conigli adulti normali e nuovi (cioè non precedentemente in alcun modo trattati), del peso di gr. 1500-2000, sono stati vaccinati con lo stesso stipite di *Bac. anthracis* attenuato, da me impiegato in esperienze precedenti sulla vaccinazione in un solo tempo (*L'Igiene Moderna,* 1924) e sulla azione patogena (1926). Questo stipite ha una virulenza un po' inferiore a quella del II vaccino di Pasteur; esso infatti, nelle citate ricerche precedenti, era risultato ancora virulento per la cavia, ma non più virulento pel coniglio per via sottocutanea.

Agarculture recenti e pienamente sporificate (48 ore a 37° C.) di questo stipite carbonchioso attenuato venivano stemperate in soluzioni di Na Cl 0,85 %, in proporzioni tali che 1 cmc. della sospensione conteneva circa 500 milioni di germi viventi (spore e forme vegetative): la dose vaccinante per via sottocutanea, intramuscolare, endoperitoneale era di 1 cmc. di questa sospensione preparata al momento stesso della vaccinazione.

Nella vaccinazione per via intramuscolare, per evitare la contaminazione della pelle, incidevo sulla linea mediana, tra le scapole, fino a scoprire le fasce dei muscoli delle docce vertebrali, e, mentre i margini della ferita erano tenuti divaricati, iniettavo il vaccino nei suddetti muscoli.

Per ridurre al minimo la contaminazione della fascia aponeurotica, aspiravo nella siringa, insieme con la sospensione vaccinale, anche un po' d'aria, che poi iniettata serviva a svuotare completamente l'ago; inoltre dopo aver aspirato nella siringa la dose vaccinale con una certa quantità d'aria, innestavo alla siringa un ago nuovo. Estratto l'ago, tenendo ancora divaricata la ferita, asportavo accuratamente la traccia di emulsione carbonchiosa eventualmente rimasta al punto di innesto mediante piccoli batuffoli di cotone idrofilo, imbevuti di una soluzione di sublimato al 2 0/00 e più volte ricambiati.

Uguali precauzioni adottavo per la iniezione endoperitoneale attraverso ai muscoli addominali messi allo scoperto.

La vaccinazione per via cutanea veniva eseguita strofinando energicamente un batuffolo imbevuto della sospensione vaccinale sulla pelle del dorso (cm. 4 $\times$ 4) recentemente rasa e più o meno escoriata dal rasoio.

La inoculazione virulenta era molto severa: inoculavo sottocute all'addome una grossa ansata di agarcultura sporificata (48 ore a 37° C.) di bac. carb. virulentissimo, stemperata in 1 cmc. di Na Cl 0,85 %. Ai conigli controllo veniva inoculata la metà di questa dose.

Le esperienze sono esposte nella tabella, che si può riassumere nel seguente specchietto:

Vaccinazione	Conigli vaccinati	Uccisi dal vaccino	Uccisi dalla inoculazione virulenta	Sopravvissuti	Valori proporzionali al primo termine - 5			
					Conigli vaccinati	Uccisi dal vaccino	Uccisi dalla inoculazione virulenta	Sopravvissuti
Cutanea	9	2	0	7	5	1,1	0	3,9
Sottocutanea	21	1	9	11	5	0,24	2,16	2,6
Intramuscolare	5	1	1	3	5	1	1	3
Endoperitoneale	5	0	3	2	5	0	3	2

Considerando complessivamente i risultati delle sei esperienze, su 40 conigli vaccinati, 4 morirono per azione del vaccino, e precisamente: 2 su 9 vaccinati per via cutanea; 1 su 5 vaccinati per via intramuscolare; 1 su 21 vaccinati per via sottocutanea; nessuna perdita tra i cinque vaccinati per via endoperitoneale.

Alla inoculazione virulenta soccombettero completamente 13 conigli, di cui 9 su 21 vaccinati per via sottocutanea, 1 sui 5 vaccinati per via intramuscolare, 3 sui 5 vaccinati per via endoperitoneale; nessuna perdita tra i vaccinati per via cutanea.

Sopravvissero alla inoculazione virulenta complessivamente 23 conigli.

Proporzionando le diverse serie a un valore comune di 5, si rendono più manifeste le differenze dei risultati ottenuti coi quattro procedimenti impiegati.

La vaccinazione cutanea dà un massimo di sopravvivenze (3,9 su 5); ma anche un massimo di perdite per effetto della stessa vaccinazione (1,1 su 5), mentre non dà nessuna perdita per effetto della inoculazione virulenta.

La vaccinazione endoperitoneale dà un minimo di sopravvivenze (2 su 5) con un massimo di perdite alla inoculazione virulenta (3 su 5), senza alcuna perdita per effetto della vaccinazione.

Le vaccinazioni per via sotto cutanea e per via intramuscolare dànno regolarmente luogo a perdite per la vaccinazione stessa e per la inoculazione virulenta; ma in proporzioni diverse: la vaccinazione sottocutanea infatti dà un minimo di perdite da vaccino (0 24 su 5), ma una elevata

proporzione di soccombenti alla inoculazione virulenta (2,16 su 5) e una proporzione di sopravvivenze relativamente bassa (2,6 su 5).

La vaccinazione intramuscolare invece presenta un passivo di perdite da vaccino nelle proporzioni di 1/5, con altrettante perdite dopo la inoculazione virulenta, con un valore di sopravvivenza che è il più elevato (3 su 5) dopo quello offerto dalla cutivaccinazione.

Dei quattro conigli uccisi dal vaccino, i due (N. 16 e 32 della Tabella) cutivaccinati, morti 7 giorni dopo la vaccinazione, presentarono edema sottocutaneo imponente, associato, in uno di essi, ad abbondante versamento peritoneale siero-ematico, con milza poco ingrandita, reperto microscopico negativo, e culturale scarsissimo.

Le scarse colonie antracoidi isolate dalla milza di uno di questi conigli risultarono virulente per la cavia; quelle ugualmente scarse, isolate dall'edema sottocutaneo dell'altro coniglio non uccidono la cavia, in cui producono soltanto un lieve e limitato edema al punto di innesto sottocute all'addome, con rapida risoluzione.

Degli altri due conigli uccisi dal vaccino, uno (N. 34 della Tabella), vaccinato per via sottocutanea, muore dopo 72 ore, l'altro (N. 42 della Tabella), vaccinato per via intramuscolare, muore dopo 10 giorni: questi due conigli *non presentano nessuna lesione*; in essi l'esame microscopico risulta negativo; soltanto la ricerca culturale riesce a dimostrare la presenza di scarse forme antracoidi.

La reazione vaccinale è inapprezzabile nei conigli vaccinati per via endoperitoneale ed intramuscolare; si limita a lieve edema rapidamente risolto nei conigli vaccinati per via sottocutanea; e tale è anche il comportamento di 4 sui 9 conigli cutivaccinati; mentre in altri 3 di questi (N. 13-15 della Tabella) si ha edema intenso a lenta risoluzione.

L'inoculazione virulenta, nei conigli che sopravvivono, produce regolarmente lieve edema limitato ed *iperemico* al punto d'innesto sottocute all'addome, a rapida risoluzione. In un coniglio vaccinato per via endoperitoneale (N. 28 della Tabella) e nel N. 41, vaccinato nei muscoli, la inoculazione virulenta non produce alcuna reazione nè locale nè generale.

Il decorso della infezione nei conigli vaccinati che soccombono alla inoculazione di prova, e nei conigli controllo non differisce sensibilmente nè per la durata nè per la forma.

II, — Considerazioni.

Meritano innanzi tutto una parola di commento le perdite **da vaccino.** Nella mia nota (1924) sulla vaccinazione anticarbonchiosa in un solo

tempo, lo stipite impiegato, che è quello stesso delle attuali esperienze, era risultato non più virulento pel coniglio inoculato sottocute. Oggi questo stesso stipite uccide un coniglio su 21 vaccinati per via sottocutanea, 1 coniglio su 5 vaccinati nei muscoli, 2 conigli su 9 cutivaccinati.

Per questo ultimo caso ho cercato di dare una spiegazione nella mia nota precedente (1926), spiegazione estensibile al comportamento del bac. carbonchioso nel tessuto muscolare (lentezza della difesa fagocitaria).

Per la perdita da vaccinazione sottocutanea, non è da escludere un aumento di virulenza consecutivo al passaggio dello stipite attraverso alla cavia e al coniglio. Infatti la perdita da vaccinazione sottocutanea (coniglio 34 della Tabella) è avvenuta nella esperienza VI, nella quale, per la preparazione del vaccino, furono impiegate diverse agarculture del solito bacillo carbonchioso attenuato, passato attraverso al coniglio (N. 16 dell'elenco) e alla cavia.

Agli effetti della vaccinazione in un solo tempo, queste presunte variazioni di virulenza meritano uno speciale studio sperimentale, che mi propongo di eseguire. Ma questo particolare non altera in nulla il significato delle attuali ricerche, le quali, come ho già avvertito, hanno lo scopo di stabilire se sia possibile una immunizzazione attiva anticarbonchiosa, mediante tale trattamento che escluda la partecipazione del tessuto cutaneo. Tale possibilità risulta chiaramente dimostrata da queste mie esperienze.

Il peritoneo, di cui io stesso ho dimostrato l'elevato potere difensivo anticarbonchioso, può essere sede adatta per la immunizzazione anticarbonchiosa. E' ben poco probabile che l'effetto immunizzante sia dovuto semplicemente al riassorbimento dei corpi bacterici uccisi dalla difesa peritoneale. E' noto infatti che il potere antigeno delle culture carbonchiose morte è praticamente trascurabile: di ciò è una conferma l'elevata proporzione di risultati sfavorevoli nella vaccinazione endoperitoneale. Il peritoneo infatti, nella maggior parte dei casi, impedisce la moltiplicazione del bacillo carbonchioso attenuato e la massa culturale introdotta nel peritoneo non esercita alcun effetto vaccinante.

Analogamente (vedi mia nota del 1924), conigli sopravvissuti alla introduzione nel peritoneo di tubetti tappati lassamente con cotone, contenenti abbondante patina carbonchiosa sporificata virulentissima, soccombono successivamente ad una inoculazione virulenta sottocutanea o intramuscolare. Dalla difesa attiva peritoneale, deve anche dipendere la mancanza di perdite per azione del vaccino introdotto nel peritoneo.

Il tessuto sottocutaneo dove, come io stesso ho potuto dimostrare, la difesa è tanto meno attiva, i risultati della vaccinazione sono migliori che per via endoperitoneale. Prescindendo dal coniglio ucciso dal vaccino, il lieve

edema consevutivo alla iniezione sottocutanea, dimostra che lo stipite carbonchioso attenuato è ancora capace di moltiplicarsi, per quanto limitatamente, nel tessuto sottocutaneo, producendo quelle sostanze solubili di carattere antigeno (tossina carbonchiosa?) che non ancora siamo riusciti ad ottenere in vitro in modo sicuro.

Ma qui ha importanza anche l'elemento quantitativo, poichè solo una parte dei conigli sottocute-vaccinati resistono alla inoculazione di prova.

Se si analizzano i risultati delle singole esperienze, si può rilevare che la mancata resistenza corrisponde ad una scarsa reazione vaccinale. Così i conigli 9, 10, 11 e 12 sottocute-vaccinati nella esperienza III, alla iniezione vaccinante reagiscono solo con lievissimo limitato edema rapidamente risolto, e soccombono alla inoculazione virulenta.

Il comportamento dei conigli vaccinati nei muscoli conferma innanzi tutto l'assenza di dermotropismo nell'azione patogena di *Bac. antracis*. Alla difesa fagocitaria, ancor meno attiva che nel sottocutaneo, corrispondono risultati immunizzanti ancora più favorevoli.

Cade così il concetto di cutivaccinazione e cutimmunità anticarbonchiosa enunciato da Besredka. Una solida immunità anticarbonchiosa si può indiscutibilmente ottenere per l'attività antigena del bacillo carbonchioso, opportunamente attenuato, capace di moltiplicarsi, sia pure limitatamente, come comporta il processo vaccinale, in tessuti diversi e indipendenti dal tessuto cutaneo.

Il comportamento dei conigli cuti-vaccinati è innanzi tutto la dimostrazione della dipendenza della immunizzazione attiva dalla moltiplicazione del bacillo attenuato. Non occorre ripetere qui le considerazioni a questo riguardo contenute nel mio studio sull'azione patogena del bac. carbonchioso attenuato.

Nessuna specificità negli effetti della cutivaccinazione: soltanto una più solida immunità consecutiva ad una più attiva moltiplicazione del germe vaccinato con più abbondante formazione di quelle sostanze a proprietà antigena chè solo *in vivo* si producono, almeno in misura tale da determinare la reazione immunitaria e lo stato immune dell'organismo.

Il comportamento dei conigli uccisi dal vaccino è altamente significativo e suggestivo a questo riguardo. Si ha infatti l'impressione che questi conigli abbiano dovuto soccombere ad una intossicazione. Due di essi (conigli cutivaccinati 16 e 32) presentano, è vero, ed in grado imponente, il caratteristico edema carbonchioso; ma uno di essi presenta già una nota eccezionale: il versamento peritoneale siero-ematico, mentre in entrambi l'esame microscopico è negativo e la ricerca culturale svela rari bacilli nell'edema, nel sangue, negli organi.

Tabella riassuntiva delle esperienze.

Esperienza	Coniglio	Vaccinazione anticarbonchiosa					Mort in seguito alla vaccinazione	Conigli controlli	Inoculazione virulenta			
		Cutanea	Sottocutanea	Intramuscolare	Endoperitoneale	Osservazioni			Distanza dalla vaccinaz. giorni	Conigli morti	Conigli sopravvissuti	Osservazioni
I	1	—	1	—	—	Sottocute all'addome: edema limitato rapidamente riassorbito.	—	—	26	1	—	Muore dopo 48 ore: Setticemia carb. accertata.
	2	—	1	—	—		—	—	26	—	1	Edema al punto d'innesto, riassorbito in una settimana.
	3	—	—	—	—		—	1	—	1	—	Muore in 48 ore: Setticemia carb. accertata.
II	4	—	1	—	—	Sottocute all'addome: edema limitato, che in seconda giornata, già accenna a regredire ed è risolto dopo 4 g.ni.	—	—	10	—	1	Edema limitato.
	5	—	1	—	—		—	—	10	—	1	Edema limitato.
	6	—	1	—	—		—	—	10	—	1	Edema limitato.
	7	—	1	—	—		—	—	10	—	1	Edema limitato.
	8	—	—	—	—		—	1	—	1	—	Muore in 72 ore: Setticemia carb. accertata.
III	9	—	1	—	—	Sottocute all'addome: lievissimo limitato edema rapidamen. risolto.	—	—	12	1	—	Muore dopo 72 ore: Setticemia carbonch. accertata
	10	—	1	—	—		—	—	12	1	—	Muore dopo 48 ore
	11	—	1	—	—		—	—	12	1	—	Muore dopo 120 ore
	12	—	1	—	—		—	—	12	1	—	Muore dopo 96 ore
	13	1	—	—	—	Edema intenso a lenta regressione.	—	—	12	—	1	Lieve edema al punto d'innesto rapidamente risolto.
	14	1	—	—	—		—	—	12	—	1	
	15	1	—	—	—		—	—	12	—	1	
	16	1	—	—	—	Edema intenso-progres. muore dopo 7 g.ni (1)	1	—	—	—	—	
	17	—	—	—	—		—	1	—	1	—	Muore dopo 72 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
IV	18	—	1	—	—	Sottocute dorso posteriore: lieve edema rapidamente risolto.	—	—	8	1	—	Muore dopo 72 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
	19	—	1	—	—		—	—	8	—	1	Lieve edema al punto d'innesto rapidamente risolto.
	20	—	1	—	—		—	—	8	—	1	
	21	—	1	—	—		—	—	8	—	1	
	22	—	1	—	—	Sottocute addome: lieve edema.	—	—	8	—	1	
	23	—	1	—	—		—	—	8	—	1	
	24	—	—	—	—		—	1	—	1	—	Muore dopo 120 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.

Esperienza	Coniglio	Vaccinazione anticarbonchiosa				Osservazioni	Morti in seguito alla vaccinazione	Conigli controlli	Inoculazione virulenta			
		Cutanea	Sottocutanea	Intramuscolare	Endoperitoneale				Distanza dalla vaccinaz. giorni	Conigli morti	Conigli sopravvissuti	Osservazioni
	25	—	I	—	—	Sottocute addome: lieve edema rapidam. riassorbito.	—	—	10	I	—	Muore dopo 96 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
	26	—	I	—	—		—	—	10	—	I	Lieve edema.
	27	—	—	—	I	Nessuna reazione apprezzabile.	—	—	10	I	—	Muore dopo 96 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
V	28	—	—	—	I		—	—	10	—	I	Nessuna reazione.
	29	—	—	I	—	Nessuna reazione apprezzabile.	—	—	10	—	I	Lieve edema.
	30	—	—	I	—		—	—	10	—	I	Lieve edema.
	31	I	—	—	—	Lieve edema rap. risolto.	—	—	10	—	I	Lieve edema.
	32	I	—	—	—	Edema progressivo muore dopo 7 giorni. (2)	I	—	—	—	—	
	33	—	—	—	—		—	I	—	I	—	Muore dopo 40 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
	34	—	I	—	—	Addome: nessuna reazione apprezzab. muore dopo 72 ore. (3)	I	—	—	—	—	
	35	—	I	—	—	Sottocute all'addome: lieve edema.	—	—	17	I	—	Muoiono in 48-72 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
	36	—	I	—	—		—	—	17	I	—	
	37	—	—	—	I	Nessuna reazione apprezzabile.	—	—	17	I	—	Muoiono in 48-72 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
	38	—	—	—	I		—	—	17	I	—	
VI	39	—	—	—	I		—	—	17	—	I	Lieve edema.
	40	—	—	I	—	Nessuna reazione apprezzabile.	—	—	17	I	—	Muore in 96 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.
	41	—	—	I	—		—	—	17	—	I	Nessuna reazione.
	42	—	—	I	—	Muore dopo 10 giorni. (4)	I	—	—	—	—	
	43	I	—	—	—	Lieve edema.	—	—	17	—	I	Lieve edema.
	44	I	—	—	—		—	—	17	—	I	
	45	I	—	—	—		—	—	17	—	I	
	46	—	—	—	—		—	I	—	I	—	Muore in 72 ore: Setticemia carbonchiosa accertata.

(1) Coniglio 16 - Edema sottocutaneo imponente; milza poco ingrandita; esame microscopico negativo. Dalla polpa splenica seminata su piastre d'agar si sviluppano poche colonie carbonchiose; identificazione mediante inoculazione alla cavia, che muore di setticemia carbonchiosa.

(2) Coniglio 32 - Imponente edema sottocutaneo; versamento peritoneale siero-ematico; milza poco ingrossata, esame microscopico negativo; milza e fegato risultano sterili dal tessuto edematoso, seminato su piastre d'agar, si sviluppano poche colonie antracoidi, che non uccidono la cavia.

(3) Coniglio 34 - Nessuna lesione apprezzabile; esame microscopico negativo. Dalla polpa splenica, seminata su piastre d'agar, si sviluppano poche colonie antracoidi.

(4) Coniglio 42 - Nessuna lesione apprezzabile; esame microscopico negativo. Dal fegato, dalla milza si sviluppano poche colonie antracoidi.

Ecco che il bacillo carbonchioso (attenuato) sembra dar luogo ad una tossi-infezione, che è anche più ammissibile negli altri due conigli uccisi dal vaccino (N. 34 e 42), in cui non si trova alcuna lesione e soltanto la ricerca culturale dimostra l'esistenza di poche forme bacteriche.

Le mie ricerche, lungi dal suffragare il concetto di immunità e immunizzazione locale sotto la specie di cutivaccinazione e cutimmunità, dimostrano, mi sembra, che i processi immunitari anticarbonchiosi si possono svolgere in qualsiasi tessuto, e tanto più intensamente, quanto più attiva è la moltiplicazione del germe vaccinante, purchè, s'intende bene, tale attività, necessaria per la produzione *in vivo* delle sostanze antigene, non sconfini in una vera e propria infezione.

III. — Riassunto e conclusioni.

In sei esperienze comparative eseguite in 1926-27, vengono vaccinati complessivamente 40 conigli: per via cutanea (9), per via sottocutanea (21), per via intramuscolare (5), per via endoperitoneale (5).

L'iniezione intramuscolare ed endoperitoneale vengono eseguite in modo da evitare la contaminazione del tessuto cutaneo.

Lo stipite vaccinante ha un grado di virulenza tale da uccidere costantemente la cavia per inoculazione sottocutanea, ma soltanto eccezionalmente il coniglio.

La vaccinazione viene eseguita in un solo tempo, impiegando, per la vaccinazione sottocutanea, intramuscolare, endoperitoneale, 1 cmc. di una sospensione in Na Cl 0,85 % di agarcultura sporificata (48 ore a 37° C.), contenente circa 500 milioni di germi viventi.

La vaccinazione per via cutanea viene eseguita strofinando energicamente un batuffolo di cotone idrofilo imbevuto nella suddetta sospensione sopra la pelle del dorso (cm. 4 × 4) recentemente rasata ed in più punti escoriata dal taglio del rasoio. Dopo un periodo variabile da 8 a 26 giorni, i conigli vaccinati, insieme con un coniglio nuovo (controllo), vengono sottoposti alla inoculazione di prova, consistente nella iniezione sottocute all'addome di una grossa ansata di agarcultura sporificata (48 ore a 37° C.) di uno stipite carbonchioso virulentissimo.

Da queste esperienze si traggono le seguenti conclusioni:

1. — L'immunizzazione attiva non è necessariamente legata alla introduzione del vaccino nel tessuto cutaneo.

2. — Tutti i tessuti di un organismo ricettivo, come permettono l'im-

pianto iniziale del bacillo carbonchioso, così offrono condizioni favorevoli allo svolgimento della reazione immunitaria.

3. — Con un vaccino unico di virulenza ben dosata, e con una unica iniezione, è possibile conferire al coniglio una solida immunità anticarbonchiosa.

4. — La vaccinazione endoperitoneale non dà perdite da vaccino; ma conferisce l'immunità a meno della metà degli animali trattati (2 su 5).

5. — La vaccinazione per via intramuscolare e per via sottocutanea conferisce l'immunità a poco più della metà degli animali trattati e determina qualche perdita da vaccino.

6. — La vaccinazione per via cutanea dà le perdite relativamente più numerose da vaccino; ma i conigli che superano la reazione vaccinale (circa 4/5) acquistano una immunità solidissima e tutti resistono ad una severa inoculazione virulenta.

7. — L'immunizzazione e l'immunità anticarbonchiosa non hanno carattere locale, onde non si può confermare il concetto di cutivaccinazione e cutimmunità anticarbonchiosa nel senso affermato da BESREDKA.